



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького
Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj

doi:10.15421/nvlvet6733

ISSN 2413–5550 print
ISSN 2518–1327 online

<http://nvlvet.com.ua/>

УДК 577.574:591.5:504:597

Вплив йонів плумбуму на лейкоцити крові коропа лускатого

М.Я. Онисковець, І.Ю. Вахуткевич, О.Б. Скаб
onyskovets_m@mail.ru

Львівський національний аграрний університет,
вул. Володимира Великого, 1, Дубляни, Львівська обл., 80381, Україна

Риби набагато чутливіші, ніж вищі хребетні, до важких металів, які здійснюють суттєвий вплив на імунологічні реакції організму. Головна роль в імунній відповіді організму належить імунокомпетентним клітинам, до яких відносять, насамперед, лімфоцити. Вивчення лейкоцитів крові дає можливість оцінити загальний фізіологічний стан організму його стійкість, здатність адаптуватись до умов середовища і, зокрема, до токсичних речовин, що забруднюють водойми. Тому метою роботи було дослідити зміни лейкоцитів коропа лускатого за умов короткотривалої дії Плумбуму. Необхідні концентрації йонів Плумбуму створювали шляхом внесення у водне середовище концентрацій 0,5 та 5 мг/л $Pb(CH_3COO)_2$. Риб з йонами Плумбуму витримували 96 годин. Кров забирали за допомогою пастерівської піпетки з серця риб. Кількість лейкоцитів визначали шляхом підрахунку в камері Горяєва. Відносний вміст лейкоцитів визначали на цитологічних препаратах з крові риб. Статистичне опрацювання результатів проводили за допомогою програми Statistisk з використанням t-коефіцієнту Ст'юдента. У результаті проведених досліджень було встановлено вірогідне збільшення загальної кількості лейкоцитів на 36 – 52% ($P \leq 0,001$) та зсув лейкоцитарної формули крові ліворуч за рахунок збільшення вмісту гістіоцитів у риб дослідних груп. Отримані результати свідчать про напруженість неспецифічної ланки імунної системи риб за умов впливу йонів Плумбуму.

Ключові слова: короп лускатий, Плумбум, лейкоцити, імунна система, важкі метали.

Влияние ионов свинца на лейкоциты крови карпа чешуйчатого

М.Я. Онисковец, И.Ю. Вахуткевич, О.Б. Скаб
onyskovets_m@mail.ru

Львовский национальный аграрный университет,
ул. Владимира Великого, 1, г. Дубляны, Львовская обл., 80381, Украина

Рыбы гораздо чувствительнее, чем высшие позвоночные, к тяжелым металлам, которые оказывают существенное влияние на иммунологические реакции организма. Главная роль в иммунном ответе организма принадлежит иммунокомпетентных клеток, к которым относят, прежде всего, лимфоциты. Изучение лейкоцитов крови дает возможность оценить общий физиологическое состояние организма его устойчивость, способность адаптироваться к условиям среды и, в частности, к токсических веществ, загрязняющих водоемы. Поэтому целью работы было исследовать изменения лейкоцитов карпа чешуйчатого в условиях кратковременной действия свинца. Необходимые концентрации ионов свинца создавали путем внесения в водную среду концентраций 0,5 и 5 мг/л $Pb(CH_3COO)_2$. Рыб с ионами свинца выдерживали 96 часов. Кровь забирали с помощью пастеровской пипетки из сердца рыб. Количество лейкоцитов определяли путем подсчета в камере Горяева. Относительное содержание лейкоцитов определяли на цитологических препаратах из крови рыб. Статистическая обработка результатов проводили с помощью программы Statistisk с использованием t-коэффициента Стьюдента. В результате проведенных исследований было установлено достоверное увеличение общего количества лейкоцитов на 36–52% ($P \leq 0,001$) и сдвиг лейкоцитарной формулы крови влево за счет увеличения содержания гистиоцитов у рыб исследовательских групп. Полученные результаты свидетельствуют о напряженности неспецифического звена иммунной системы рыб в условиях воздействия ионов свинца.

Ключевые слова: карп чешуйчатый, Свинец, лейкоциты, иммунная система, тяжелые металлы.

Citation:

Onyskovets, M.J., Vakhutkevych, I.J., Skab, O.B. (2016). Lead influence on blood leukocytes scaly carp. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 2(67), 146–148.

Lead influence on blood leukocytes scaly carp

M.J. Onyskovets, I.J. Vakhutkevych, O.B. Skab
onyskovets_m@mail.ru

Lviv National Agrarian University,
Volodymyr Velykyi Str., 1, Dubliany, Lviv, 80381, Ukraine

*Fishes much more sensitive than higher vertebrates, heavy metals that have a significant effect on immunological reactions. The main role in the immune response of the body belongs to immune cells, which include primarily lymphocytes. The study of white blood cells makes it possible to assess the general physiological condition of the body its stability, ability to adapt to environmental conditions and in particular to toxic substances that pollute water bodies. The purpose of the work was to investigate changes in leukocyte carp flake under conditions of short-term action Lead. Required Lead concentrations of ions created by introducing into water concentrations of 0.5 and 5 mg/l $Pb(CH_3COO)_2$. Lead ions of fish kept 96 hours. Blood is taken using the Pasteur pipette with heart fish. The number of leukocytes was determined by counting in the Goryaev's chamber. The relative content of leukocytes determined in cytological specimens of fish blood. Statistical analysis of the results was performed using Statistik using Student's *t*-factor. As a result of studies found a likely increase in the total number of white blood cells to 36 – 52% ($P \leq 0,001$) and shift leukocytic blood left by the increase of histiocytes in fish research groups. The results indicate the tension level of non-specific immune system of fish under the conditions of influence Lead ions.*

Key words: scaly carp, lead, leukocytes, the immune system, heavy metals.

Вступ

Імунна система риб, яка здійснює захист внутрішнього середовища від вторгнення чужорідних антигенів, є чутливим показником стану як самого організму, так і середовища існування (Zabotkina and Lapirova, 2003). Відомо, що риби набагато чутливіші, ніж вищі хребетні, до важких металів, які здійснюють суттєвий вплив на імунологічні реакції організму. Вивчення лейкоцитів крові дає можливість оцінити загальний фізіологічний стан організму (Drohomyretska and Mazepa, 2009), його стійкість, здатність адаптуватись до умов середовища і, зокрема, до токсичних речовин, що забруднюють водойми (Marth et al., 2001; Kondrateva and Kitashova, 2002). Тому метою роботи було дослідити зміни лейкоцитів коропа лускатого за умов короткотривалої дії Плюмбуму.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проведено у акваріумах об'ємом 200 л, в які розміщували по 5 особин. Здійснювали постійну аерацію і підтримували температурний режим води на рівні 18–20 °С. Перед дослідом тварин адаптували до лабораторних умов протягом 3 діб. Риб під час експерименту не годували.

Необхідні концентрації йонів Плюмбуму у всіх серіях дослідів створювались шляхом внесення у водне середовище концентрацій 0,5 та 5 мг/л, що відповідає 5 та 50 санітарно-гігієнічним граничнодопустимим концентраціям (ГДК) $Pb(CH_3COO)_2$ «х.ч.».

Риб у присутності йонів Плюмбуму витримували 96 годин. Контрольні показники отримували від піддослідних особин коропа лускатого, які перебували у водному середовищі без додавання йонів Плюмбуму. Кров забирали за допомогою пастерівської піпетки з серця риб, з використанням як антикоагулянту розчину гепарину з розрахунку 10 од/мл крові.

Кількість лейкоцитів крові визначали шляхом підрахунку в камері Горяєва. Відносний вміст лейкоцитів

визначали на цитологічних препаратах з крові риб згідно до відповідних методик.

Статистичне опрацювання результатів проводили за допомогою програми Statistik з використанням *t*-коефіцієнту Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Аналіз даних літератури свідчить про те, що проблема впливу сполук важких металів на імунну систему риб потребує подальших досліджень. Відомо, що зміни з боку імунітету риб за впливу важких металів проявляються швидше і тривають довше, ніж у ссавців (Kondrateva and Kitashova, 2002). Головна роль в імунній відповіді організму належить імунокомпетентним клітинам, до яких відносять, насамперед, лімфоцити, а також макрофаги/моноцити і нейтрофіли (Bols et al., 2001).

У результаті проведених досліджень було встановлено, що за умов впливу Плюмбуму у периферичній крові коропа відбувається збільшення кількості лейкоцитів ($P < 0,001$) (табл.).

За умов впливу 5 ГДК Плюмбуму відзначено зростання досліджуваного показника на 36% і за умов 50 ГДК Плюмбуму – на 52%. Отримані результати можна пояснити зростанням кількості ушкоджених та мертвих клітин, які елімінуються лейкоцитами. У лейкоцитарній формулі крові *Cyprinus carpio* L. не спостерігалось вірогідних змін у кількості лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів.

Як видно з таблиці, відбувається вірогідне зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів. За умов впливу Плюмбуму у концентрації 0,5 мг/л у 2 рази, а за умов 5 мг/л – у 3,4 разу. Разом з тим компенсаторно зросла кількість юних форм лейкоцитів (гістіоцитів) за умов дії усіх використаних концентрацій Плюмбуму. Показано, що за умов концентрації Плюмбуму, що відповідає 50 ГДК відбувається максимальне зростання кількості гістіоцитів на 20 % ($P < 0,001$), у порівнянні з контрольною групою.

**Морфологічний стан лейкоцитів коропа лускатого за дії Плюмбуму, %
($M \pm m$; $n = 5$)**

Показник	Контроль	Концентрація Плюмбуму (Pb^{2+})	
		0,5 мг/л (5 ГДК)	5 мг/л (50 ГДК)
Лейкоцити, 10^9 /л	$16,59 \pm 0,50$	$25,72 \pm 0,34^{***}$	$34,92 \pm 1,43^{***}$
Лімфоцити, %	$68,5 \pm 2,0$	$68,8 \pm 1,36$	$67,6 \pm 1,03$
Моноцити, %	$2,3 \pm 1,13$	$1,4 \pm 0,24$	$1,6 \pm 0,24$
Еозинофіли, %	$3,5 \pm 0,58$	$2,6 \pm 0,51$	$2,4 \pm 0,51$
Сегментоядерні нейтрофіли, %	$4,7 \pm 0,93$	$2,4 \pm 0,60^*$	$1,4 \pm 0,24^{**}$
Паличкоядерні нейтрофіли, %	–	–	–
Гістіоцити, %	$21,8 \pm 0,98$	$24,8 \pm 1,28^*$	$27,0 \pm 0,71^{***}$

Примітка. Різниця вірогідна порівняно з контролем: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

Висновки

Таким чином, за дії підвищених концентрацій Плюмбуму було встановлено вірогідне збільшення загальної кількості лейкоцитів на 36–52 % ($P < 0,001$) та зсув лейкоцитарної формули крові ліворуч за рахунок збільшення вмісту гістіоцитів у риб дослідних груп. Отримані результати свідчать про напруженість неспецифічної ланки імунної системи риб за умов впливу йонів Плюмбуму.

Перспективи подальших досліджень. Наступні дослідження будуть спрямовані на вивчення функціонального стану лейкоцитів крові коропа лускатого за умов дії підвищених концентрацій Плюмбуму, а зокрема проліферативної активності лімфоцитів.

Бібліографічні посилання

Drohomyretska, I.Z., Mazepa, M.A. (2009). Vplyv ioniv vazhkykh metaliv na limfotsyty *Cyprinus carpio* L. Pytannia bioindykatsii ta ekolohii. Zaporizhzhia: ZNU, 14(2), 182–192 (in Ukrainian).

Drohomyretska, I.Z., Mazepa, M.A. (2009). Osoblyvosti leukotsytarnoi formuly krovi ta krovotvornykh orhaniv *Cyprinus carpio* L. za dii toksychnykh kontsentratsii ioniv nikeliu. Uch. zap. Tavri. nats. un.–ta im. V.I. Vernadskogo. Seriya Biologiya. 22(1), 9–15 (in Ukrainian).

Zabotkina, E.A., Lapirova, T.B. (2003). Vliyanie tyazhelykh metallov na immunofiziologicheskii status ryib. Uspehi sovrem. biologii. 123(4), 401–408 (in Russian).

Kondrateva, I.A., Kitashova A.A. (2002). Sovremennyye predstavleniya ob immunnoy sisteme ryib. Funktsionirovanie i regulatsiya immunnoy sistemy ryib. Immunologiya. 2, 97–101 (in Russian).

Bols, N.C., Brubacher, J.L., Ganassin, R.C. (2001). Ecotoxicology and innate immunity in fish. Developmental and Comparative Immunology. 25, 853–873.

Marth, E., Jelovcan, S., Kleinhapfl, B. (2001). The effect of heavy metals on the immune system at low concentrations. International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health. 14(4), 375–386.

Стаття надійшла до редакції 3.09.2016